

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 29 APR 2004

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 GP03-1020PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO3/09140	国際出願日 (日.月.年) 18.07.2003	優先日 (日.月.年) 18.07.2002
国際特許分類 (IPC) Int. Cl. 7 C07K16/00, C07K19/00, C12N15/09, G01N33/53		
出願人 (氏名又は名称) 遠藤 弥重太		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で 6 ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 25.12.2003	国際予備審査報告を作成した日 13.04.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 七條 里美 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B .2936

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

- ☒ 明細書 第 1-39 ページ、
 明細書 第 _____ ページ、
 明細書 第 _____ ページ、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 請求の範囲 第 3-8, 12-15, 21-27 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 _____ 項、
 請求の範囲 第 1-2, 9, 16, 18-20, 28 項、
 出願時に提出されたもの
 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 05.04.2004 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 図面 第 1-6 ページ
 図面 第 _____ ページ/図、
 図面 第 _____ ページ/図、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 明細書の配列表の部分 第 1-4 ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
 出願時に提出されたもの
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☒ 請求の範囲 第 10, 11, 17 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-9, 12-16, 18-28 有
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-9, 12-16, 18-28 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-9, 12-16, 18-28 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

- 文献1: Cancer Res, 1995, Vol. 55, No. 16, p. 3584-3591
文献2: J Biotechnol, 1998, Vol. 65, No. 2-3, p. 225-228
文献3: WO 95/04069 A1 (Affymax Technologies N.V.) 1995.02.09
文献4: US 5723584 A (Affymax Technologies N.V.) 1998.03.03
文献5: Anal Biochem, 1998, Vol. 262, No. 2, p. 122-128
文献6: Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, Vol. 97, No. 2, p. 559-564
文献7: Nat Biotechnol, 1997, Vol. 15, No. 1, p. 79-84
文献8: FEBS Lett, 2002 Mar, Vol. 514, No. 2-3, p. 290-294

請求の範囲 1-9, 12-16, 18-28

請求の範囲 1-9, 12-16, 18-28 に記載された発明は、国際調査報告で引用した文献 1-8 に対して、新規性及び進歩性を有する。

文献 1-8 のいずれにも、単鎖抗体のリンカー部分に標識化物質を担持することにより、抗原認識能に影響を与えることなく標識化することができることについては記載されておらず、しかもその点は当該技術分野の専門家にとって自明のことであるとも言えない。

請求の範囲

1. (補正後) 単鎖抗体のリンカー部分に標識化物質を担持することを特徴とする標識化単鎖抗体。
- 5 2. (補正後) 単鎖抗体のリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該抗体の重鎖および軽鎖が可変領域であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
3. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定
- 10 の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
4. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得
- 15 る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。
5. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。
- 20 6. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。
7. 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー
- 25 一部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単鎖抗体。

8. 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単

5 鎖抗体。

9. (補正後) 天然型の抗体と同等の K_d 値を有し、コムギ胚芽を使った無細胞タンパク質翻訳系によって製造された請求項1～8の何れかーに記載の標識化単鎖抗体。

10. (削除)

10 11. (削除)

12. 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードするDNAが、リンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該リンカーをコードするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むことを特徴とするDNA。

15 13. 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコードするDNAが、リンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該リンカーをコードするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むことを特徴とするDNA。

14. 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードするDNAが、
20 翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該標識物質を結合し得る塩基配列が、ビオチンリガーゼにより認識されるアミノ酸配列をコードすることを特徴とするDNA。

15. 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコー
25 ドするDNAが、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードするDNAを介して連結されているDNAにおいて、該標識物質を結合し得る塩基配列が、ビオチンリガーゼにより認識されるアミノ

日本国特許庁 05.04.04

酸配列をコードすることを特徴とするDNA。

16. (補正後) 請求項12～15のいずれかに記載のDNAを、標識化物質および特定の酵素の存在下でタンパク質合成系を用いて転写翻訳することを特徴とする標識化単鎖抗体の製造方法。

5 17. (削除)

18. (補正後) タンパク質合成系が、コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系であって、その翻訳反応液中の還元剤の濃度が、製造する標識化単鎖抗体のジスルフィド結合が保持され、かつ無細胞タンパク質合成が可能な濃度であることを特徴とする請求項16に記載の標識化単鎖抗体の製造方法。

10 19. (補正後) さらにジスルフィド結合交換反応を触媒する酵素の存在下で行うことを特徴とする請求項18に記載の標識化単鎖抗体の製造方法。

20. (補正後) コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系を使い請求項19に記載の標識化単鎖抗体の製造方法によって製造された天然型の抗体と同等のK_d値を有する標識化単鎖抗体。

15 21. 抗体の標識化物質と特異的に結合する物質を表面に有する複数の領域に区画された基盤に、以下のいずれか1に記載の抗体を接触させることを特徴とする固相化単鎖抗体の製造方法。

1) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持することを特徴とする標識化単鎖抗体。

20 2) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該抗体の重鎖および軽鎖が可変領域であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

3) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー一部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定
25 の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

4) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有

し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る物質であることを特徴とする標識化単鎖抗体。

5 5) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。

6) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識
10 化物質が、抗体のリンカー部分の一部として組み込まれていることを特徴とする標識化単鎖抗体。

7) 抗体の重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであ
15 り、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単鎖抗体。

8) 抗体の可変領域である重鎖および軽鎖がリンカーを介して架橋する構造を有し、かつリンカー部分に、特定の酵素の存在下で抗体のリンカー部分のポリペプチドに結合し得る標識化物質を担持する標識化単鎖抗体において、該標識化物質がビオチンであり、該酵素がビオチンリガーゼであることを特徴とする標識化単
20 鎖抗体。

22. 請求項21に記載の固相化単鎖抗体の製造方法において、複数の領域に区画された基盤上で2種以上の異なる固相化単鎖抗体を固相化することを特徴とする固相化単鎖抗体の製造方法。

23. 標識化物質がビオチンであり、該標識化物質と特異的に結合する物質がストレプトアビジンであることを特徴とする請求項21または22に記載の製造方法。
25

24. 請求項21～23に記載の製造方法により調製される固相化単鎖抗体。

25. 請求項 24 に記載の固相化単鎖抗体に被検物質を接触させ、該固相化単鎖抗体との結合性を解析することを特徴とする抗原抗体反応の解析方法。

26. 以下の工程を含む、抗原抗体反応の解析方法。

(1) 以下の要素の①又は②を含む、単鎖抗体のジスルフィド結合が保持される

5 条件下において、標識化単鎖抗体を調製する工程、

① 特定抗原への結合性を有する抗体の重鎖および軽鎖をコードする DNA が、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードする DNA を介して連結されている DNA を、特定の酵素の存在下でコムギ無細胞系タンパク質合成系を用いて転写翻訳し、標識化単鎖

10

抗体を製造する工程、

② 特定抗原への結合性を有する抗体の可変領域である重鎖および軽鎖をコードする DNA が、翻訳後に特定の酵素の存在下で標識化物質を結合し得る塩基配列を含むリンカーをコードする DNA を介して連結されている DNA を、特定の酵素の存在下でコムギ無細胞系タンパク質合成系を用いて転写翻

15

訳し、標識化単鎖抗体を製造する工程、

(2) 以下の要素を含む、標識化単鎖抗体の標識化物質が固相化物質である場合における標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合する物質（アダプター物質）を調製する工程、

①複数の領域に区画された基盤に標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合

20

する物質（アダプター物質）を固定する工程、

②前記①の基盤に固定されなかった標識化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合する物質（アダプター物質）を除去する工程、

③前記①又は②の工程の前後において、適宜基盤における非特異的吸着を除去する工程、

25

(3) 以下の要素を含む、標識化単鎖抗体の標識化物質が固相化物質である場合における固相化標識化単鎖抗体を調製する工程、

①前記(1) ①又は②で調製した標識化単鎖抗体の標識化物質を(2)の標識

- 化単鎖抗体の標識化物質と特異的に結合する物質（アダプター物質）を表面に有する複数の領域に区画された基盤に必要量を添加、接触させる工程、
- ②前記①の基盤上の標識化単鎖抗体と特異的に結合する物質（アダプター物質）に固定されなかった標識化単鎖抗体を除去する工程、
- 5 ③前期②の工程に続いて、適宜基盤における非特異的吸着を除去する工程、
- （４）以下の要素を含む、標識化物質がシグナル物質である場合における標識化単鎖抗体を調製する工程、
- ①適宜、複数の領域に区画された基盤における非特異的吸着を除去する工程、
- ②前記（１）①又は②で調製した標識化単鎖抗体の標識化物質を基盤に必要量
- 10 を添加、させる工程、
- （５）被検物質を前記（３）又は（４）に記載の各基盤に必要量添加し、標識化単鎖抗体と該被検物質との結合性を解析する工程、
- （６）（５）の結合性結果をもとに、標識化単鎖抗体と被検物質との相互作用を質的又は量的に判定する工程。
- 15 27. 請求項25又は26に記載の解析方法に使用される試薬を含む抗原抗体反応の測定用試薬キット。
- 28.（追加）コムギ胚芽由来の無細胞タンパク質翻訳系を使い請求項21～23に記載の固相化単鎖抗体の製造方法によって製造され天然型の抗体と同等のKd値を有する固相化単鎖抗体。

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP2003/009140



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference GP03-1020PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP2003/009140	International filing date (day/month/year) 18 July 2003 (18.07.2003)	Priority date (day/month/year) 18 July 2002 (18.07.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 16/00, 19/00, C12N 15/09, G01N 33/53		
Applicant ENDO, Yaeta		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.
☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 6 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 25 December 2003 (25.12.2003)	Date of completion of this report 13 April 2004 (13.04.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PC/P2003/009140

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-39, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages 3-8, 12-15, 21-27, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages 1-2, 9, 16, 18-20, 28, filed with the letter of 05 April 2004 (05.04.2004)
- ☒ the drawings:
 pages 1-6, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
 pages 1-4, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☒ the claims, Nos. 10, 11, 17
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP03/09140

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-9, 12-16, 18-28	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-9, 12-16, 18-28	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-9, 12-16, 18-28	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: Cancer Res., 1995, Vol. 55, No. 16, pages 3584-3591
 Document 2: J. Biotechnol., 1998, Vol. 65, No. 2-3, pages 225-228
 Document 3: WO, 95-04069, A1 (Affymax Technologies N.V.), 9 February, 1995 (09.02.95)
 Document 4: US, 5723584, A (Affymax Technologies N.V.), 3 March, 1998 (03.03.98)
 Document 5: Anal. Biochem., 1998, Vol. 262, No. 2, pages 122-128
 Document 6: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, Vol. 97, No. 2, pages 559-564
 Document 7: Nat. Biotechnol., 1997, Vol. 15, No. 1, pages 79-84
 Document 8: FEBS Lett., March 2002, Vol. 514, No. 2-3, pages 290-294

Claims 1-9, 12-16 and 18-28

The subject matters of claims 1-9, 12-16 and 18-28 appear to be novel and to involve an inventive step in view of documents 1-8 cited in the ISR.

None of documents 1-8 describes that if the linker moiety of a single chain antibody is loaded with a labeling material, it can be labeled without affecting the ability of recognizing antigens. This constitution is not considered to be obvious to a person skilled in the art either.